

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată în industria vinicolă.

Sunt cunoscute tulpinile de levuri, destinate producerii diferitor băuturi alcoolice obținute prin fermentare alcoolică, în special la producerea Vinurilor cu Denumirea de Origine (VDO) din Madrid, Spania din genul *Saccharomyces cerevisiae*, care au fost evidențiate din microflora autohtonă provenită din regiunea care cuprinde arealele Arganda, Navalcameno and San Martin [1].

Mai sunt cunoscute tulpini de levuri genetic modificate din genul *Saccharomyces*, care sunt obținute pentru aplicarea în procesul de fermentare alcoolică în scopul îmbunătățirii aromelor produselor finite, în special a băuturilor alcoolice (vin, cidru, bere) [2].

La utilizarea acestor tulpini de levuri genetic modificate sunt obținute vinuri aromate cu concentrația tiolilor volatili aromați de 3 ori mai sporită față de tulpinile inițiale, însă există riscuri legate de utilizarea produselor genetic modificate în alimentația omului.

Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, selectată din sedimente vinicole oferite de Institutul de Vinificație al Republicii Moldova, actualmente Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, care sintetizează în cantități sporite β -glucani [3].

Însă, până la momentul actual, evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre vinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor albe seci aromate nu a fost cercetată.

Problema pe care o rezolvă invenția revendicată constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor albe seci de calitate înaltă.

Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22, pentru utilizare în producerea vinurilor albe seci aromate.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Muscat la baza experimentală viti-vinicolă a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din orașul Chișinău prin metoda „Ansei epuizate” în a. 2007.

Caracterile morfologo-culturale ale tulpinii: microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe cale vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde. Lățimea celulelor variază între 5,00...5,20 μ m cu lungimea de 6,20 μ m, având o suprafață de 25,3 μ m². Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliu autentic. Pe mediu lichid formează depozit granulat, tasat și nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața încrețită, lucioasă de culoare albă-maroniu.

Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: crește în intervalul de temperatură 10...38oC; o dezvoltare optimă se atinge în intervalul termic de 18...28oC; coloniile apar peste 48...72 ore; pH optimal 2,8...3,4; nu elimină H₂S, posedă competitivități tehnologice.

Importanța practică a tulpinii (domeniul de utilizare): tulpina propusă este recomandată pentru producerea vinurilor albe seci aromate.

Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, glicerină, 2, 3-butilenglicol, esteri.

Parametrii productivi ai tulpinii: în mediul lichid natural (suc de struguri), după 72 ore de cultivare, sușa formează circa 100...150 mln celule/ml.

Metode de determinare a activității tulpinii: metode stabilite de Organizația Internațională pentru Vie și Vin (OIV) pentru caracteristica tulpinilor de levuri.

Condițiile și componența mediului de cultură: mediul de cultură din must de struguri se obține din must proaspăt de struguri (glucide – 170...200 g/l), decantat și sterilizat la temperatura de 125oC timp de o oră. Nu se folosesc temperaturi mai ridicate și intervale de timp de lungă durată, pentru a evita distrugerea compușilor de creștere și înmulțire.

Mediul de cultură agarizat se obține din must de struguri steril, al cărui pH este adus la valoarea 6,0 prin adăos de soluție alcalină de NaOH/KOH (1N). În mustul astfel pregătit se administrează autolizat de drojdie cu concentrația de 5...10 g/l și agar-agar 20...30 g/l.

În cazul când se folosește mediul lichid, în eprubete sterile din sticlă cu volumul de 20 ml, se toarnă câte 10 ml mediu de cultură, se sterilizează în autoclavă timp de 30 min la 0,5 atm. Sușa se cultivă pe acest mediu lichid la temperatura de 28±1oC timp de 48...72 ore.

În cazul când se folosește mediul solid agarizat, mediul de cultură se sterilizează în autoclavă timp de 30 min la 0,5 atm; se toarnă în cutii Petri sterile; după solidificare, sușa se cultivă pe acest mediu la temperatura de 28±1oC timp de 48...72 ore.

În cazul când lipsește mediul natural, se folosește mediul sintetic Hansen, glucoză sau maltoză – 50 g; peptonă – 10 g; KH₂PO₄ – 3 g; MgSO₄·7H₂O – 2,5 g; apă distilată – 1000 ml.

Mediul sintetic se solidifică cu adăugarea de agar-agar în cantitate de 1...3%. Se sterilizează la fel ca și mediul natural.

Particularitățile genetice ale tulpinii: formare de compuși aromatici.

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este izolată și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-22.

Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor albe seci de calitate înaltă.

Exemplul 1

Mustuiala din struguri de soiul Muscat cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,5 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitată până la 100 mg/l, macerată timp de 6 ore la temperatura de 16...18oC. Asamblarea mustului a fost realizată între mustul ravac și fracțiunea de la ștuțul I. Limpezirea a fost efectuată la rece (t=10oC), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile selecționate autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Muscat a constituit 1% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de 18...20oC. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat prin o fermentare liniștită, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat în decurs de 16 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat obținut are o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă fină cu nuanțe citrice, tipice de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe tipice de Muscat în postgust. Nota organoleptică – 8,00 puncte. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22 permite fabricarea vinului alb sec aromat de calitate înaltă.

Exemplul 2

Mustuiala din struguri de soiul Muscat cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile 7,5 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitată până la 100 mg/dm³, macerată timp de 6 ore la temperatura de 16...18oC. Asamblarea mustului a fost realizată între mustul ravac și fracțiunea de la ștuțul I. Limpezirea a fost efectuată la rece (t=10oC), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile selecționate autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Muscat a constituit 2% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de 18...20oC. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat prin o fermentare moderată, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat în decurs de 14 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat obținut are o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată, cu nuanțe pronunțate de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe citrice în postgust. Nota organoleptică – 8,1. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22 permite fabricarea vinului alb sec aromat de calitate înaltă.

Exemplul 3

Mustuiala din struguri de soiul Muscat cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,5 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitată până la 100 mg/l, macerată timp de 6 ore la temperatura de 16...18oC. Asamblarea mustului a fost realizată între mustul ravac și fracțiunea de la ștuțul I. Limpezirea a fost efectuată la rece (t=10oC), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile selecționate autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Muscat a constituit 3% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de 18...20oC. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat prin o fermentare intensă, cu formarea abundentă a spumei, care s-a finalizat în decurs de 12 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat obținut are o culoare pai deschisă, aroma curată, cu nuanțe tipice de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe citrice în postgust. Nota organoleptică – 7,95. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22 permite fabricarea vinului alb sec aromat de calitate înaltă.